

01/08/2000

PCT

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL  
Oficina InternacionalSOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACION  
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

<b>(51) Clasificación Internacional de Patentes <sup>7</sup> :</b> <b>A23B 7/10, A23L 1/218</b>	<b>A1</b>	<b>(11) Número de publicación internacional:</b> <b>WO 00/60948</b>  <b>(43) Fecha de publicación internacional:</b> 19 de Octubre de 2000 (19.10.00)
<b>(21) Solicitud internacional:</b> PCT/ES00/00125  <b>(22) Fecha de la presentación internacional:</b> 7 de Abril de 2000 (07.04.00)  <b>(30) Datos relativos a la prioridad:</b> P 9900740      9 de Abril de 1999 (09.04.99)      ES  <b>(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo US):</b> CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS [ES/ES]; Calle Serrano, 117, E-28006 Madrid (ES).  <b>(72) Inventores; e</b> <b>(75) Inventores/solicitantes (sólo US):</b> JIMENEZ DIAZ, Rufino [ES/ES]; Instituto de la Grasa, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Avenida Padre García Tejero, 4, E-41012 Sevilla (ES). RUIZ BARBA, José Luis [ES/ES]; Instituto de la Grasa, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Avenida Padre García Tejero, 4, E-41012 Sevilla (ES). REJANO NAVARRO, Luis [ES/ES]; Instituto de la Grasa, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Avenida Padre García Tejero, 4, E-41012 Sevilla (ES). SANCHEZ GOMEZ, Antonio Higinio [ES/ES]; Instituto de la Grasa, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Avenida Padre García Tejero, 4, E-41012 Sevilla (ES).		<b>FLORIANO PARDAL, Belén [ES/ES];</b> Instituto de la Grasa, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Avenida Padre García Tejero, 4, E-41012 Sevilla (ES).  <b>(74) Mandatario:</b> OJEDA GARCIA, Pedro; Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Calle Serrano, 113, E-28006 Madrid (ES).  <b>(81) Estados designados:</b> AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, Patente ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Patente euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Patente europea (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), Patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).  <b>Publicada</b> Con informe de búsqueda internacional.
<b>(54) Title: PROCESS FOR FERMENTING VEGETABLE PRODUCTS</b>  <b>(54) Título: PROCEDIMIENTO DE FERMENTACION DE PRODUCTOS VEGETALES</b>  <b>(57) Abstract</b>  The invention relates to a process for fermenting vegetable products applicable inter alia to all possible varieties of olives, cucumbers and carrots. In comparison with traditional processes, said process includes an additional step of inoculating the brine in which the vegetable products are placed with a culture of microorganism <i>Lactobacillus plantarum</i> LP RJ1, which produces a bacteriocin called plantaricin S. The process according to the invention ensures greater homogeneity in the taste, aroma and quality of the fermented product and a considerable reduction in deterioration thereby increasing process yields.  <b>(57) Resumen</b>  La presente invención se refiere a un procedimiento de fermentación de productos vegetales aplicable, entre otros, a aceitunas de todas las variedades posibles, pepinillos y zanahorias. El procedimiento incluye como paso adicional al proceso tradicional la inoculación de la salmuera en la que se colocan los productos vegetales con un cultivo del microorganismo <i>Lactobacillus plantarum</i> LP RJ1, productor de una bacteriocina denominada plantaricina S. con el procedimiento de la invención se consigue una mayor homogeneidad en el sabor, aroma y calidad del producto fermentado y una importante reducción del deterioro, con lo cual se aumenta el rendimiento del proceso.		

# UNICAMENTE PARA INFORMACION

Códigos utilizados para identificar a los Estados parte en el PCT en las páginas de portada de los folletos en los cuales se publican las solicitudes internacionales en el marco del PCT.

AL	Albania	ES	España	LS	Lesotho	SI	Eslovenia
AM	Armenia	FI	Finlandia	LT	Lituania	SK	Eslovaquia
AT	Austria	FR	Francia	LU	Luxemburgo	SN	Senegal
AU	Australia	GA	Gabón	LV	Letonia	SZ	Swazilandia
AZ	Azerbaiyán	GB	Reino Unido	MC	Mónaco	TD	Chad
BA	Bosnia y Herzegovina	GE	Georgia	MD	República de Moldova	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tayikistán
BE	Bélgica	GN	Guinea	MK	Ex República Yugoslava de Macedonia	TM	Turkmenistán
BF	Burkina Faso	GR	Grecia	ML	Malí	TR	Turquía
BG	Bulgaria	HU	Hungría	MN	Mongolia	TT	Trinidad y Tabago
BJ	Benin	IE	Irlanda	MR	Mauritania	UA	Ucrania
BR	Brasil	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarús	IS	Islandia	MX	México	US	Estados Unidos de América
CA	Canadá	IT	Italia	NE	Níger	UZ	Uzbekistán
CF	República Centrafricana	JP	Japón	NL	Países Bajos	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Noruega	YU	Yugoslavia
CH	Suiza	KG	Kirguistán	NZ	Nueva Zelanda	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	República Popular Democrática de Corea	PL	Polonia		
CM	Camerún	KR	República de Corea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kazakstán	RO	Rumania		
CU	Cuba	LC	Santa Lucía	RU	Federación de Rusia		
CZ	República Checa	LI	Liechtenstein	SD	Sudán		
DE	Alemania	LK	Sri Lanka	SE	Suecia		
DK	Dinamarca	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estonia						

**TITULO****PROCEDIMIENTO DE FERMENTACIÓN DE PRODUCTOS VEGETALES****OBJETO DE LA INVENCION**

5 El objeto de la presente invención es un procedimiento de fermentación de productos vegetales aplicable, entre otros, a aceitunas de todas las variedades posibles, pepinillos y zanahorias.

10 El procedimiento incluye como paso adicional al proceso tradicional, la inoculación de la salmuera en la que se colocan los productos vegetales con un cultivo del microorganismo *Lactobacillus plantarum* LP RJ1. Constituyen asimismo otros objetos de la presente invención el propio microorganismo utilizado en el procedimiento de fermentación, así como la utilización del microorganismo y los productos fermentados obtenidos mediante el procedimiento.

15

**ESTADO DE LA TECNICA**

*Lactobacillus plantarum* es una bacteria láctica que se ha asociado históricamente a la fermentación tradicional, espontánea, de aceitunas verdes  
20 estilo español, pepinillos y otros productos vegetales, como las zanahorias (Cruess, W.V. "Pickling green olives"; Calif. Agric. Exp. Stn. Bull. 498, 1930; Anderson, R. "Characteristics of the bacterial flora isolated during spontaneous lactic acid fermentation of carrots and red beets"; Lebensm. Wiss. u. Technol. 17, 282-286, 1984; Daeschel et al. "Microbial ecology of fermenting plant materials";  
25 FEMS Microbiol. Rev. 46, 357-367, 1987). El desarrollo de esta especie bacteriana en las salmueras de fermentación se considera esencial para la conservación de dichos productos vegetales, ya que produce la cantidad necesaria de ácido láctico para que dicha conservación sea efectiva.

30

Aunque se encuentra en pequeña proporción entre la población bacteriana que se desarrolla en los momentos iniciales de la fermentación, típicamente *L. plantarum* se convierte en la especie dominante sobre otras bacterias lácticas y bacterias gram-negativas al poco tiempo de que los productos vegetales hayan sido colocados en la salmuera, coexistiendo en algunos casos (como en la fermentación de aceitunas y pepinillos) con una población de levaduras hasta el final del proceso fermentativo (de la Borbolla y Alcalá et al. "Estudio sobre el aderezo de aceitunas verdes. XV. La primera fase de la fermentación."; Grasas y Aceites 9, 118-124, 1958; Fleming, H.P. "Developments in cucumber fermentation"; J. Chem. Tech. Biotechnol. 34B, 241-252, 1984). Para conseguir un producto estable con el aroma y el sabor típicos de los productos fermentados (aceitunas, pepinillos, zanahorias, etc.), es esencial que todos esos microorganismos se desarrollen en la salmuera siguiendo la secuencia correcta, tal como se ha descrito anteriormente (Fernández-Díez, M.J. "Food and feed production with microorganisms; Olives"; G. Reed, 379-397, 1983; Garrido-Fernández et al. "Food fermentations; Olive fermentations"; G. Reed, 593-627, 1995).

Todas las fermentaciones naturales de productos vegetales dependen de los microorganismos presentes en los productos de partida (la denominada flora natural), en los utensilios con que se manipulan y en los recipientes (fermentadores) en que se almacena el producto para proceder a su fermentación. Esto hace que aparezcan con frecuencia variaciones indeseables en el sabor, el aroma y la calidad y que se deterioren cantidades importantes de frutos. Por ello se hace necesario establecer mecanismos de control de dichas fermentaciones, entre los que el uso de cultivos iniciadores de *L. plantarum* se considera potencialmente interesante a este respecto.

Se han descrito procedimientos para controlar la microflora durante la fermentación de los productos vegetales, bien mediante inoculación directa con cultivos puros de *L. plantarum*, bien utilizando una salmuera que contuviera una población de lactobacilos activos (de la Borbolla y Alcalá et al. "Empleo de cultivos

puros de lactobacilos en la preparación de aceitunas verdes"; Grasas y Aceites, 15, 6-11, 1964; Etchells). Sin embargo los resultados obtenidos no siempre han sido satisfactorios, debido a que los cultivos utilizados no habían sido optimizados para estas fermentaciones. Una característica importante que debe tener un

5 cultivo de *L. plantarum* que se vaya a utilizar como iniciador es su capacidad para dominar la microflora indígena. Esta dominancia puede conseguirse bien a través de un rápido crecimiento de esta bacteria láctica en las condiciones de fermentación, bien por su capacidad para producir ciertas sustancias antagonistas denominadas bacteriocinas (Marugg, J.D. "Bacteriocins, their role in developing

10 natural products"; Food Biotechnol. 5, 305-312, 1991). El hecho de que el cultivo iniciador que se utilice sea capaz de producir bacteriocina le proporciona "a priori" una ventaja selectiva no sólo frente a la microflora natural que puede desarrollarse durante la fermentación y que compite por los sustratos con *L. plantarum*, sino frente a la microflora que puede deteriorar el producto, durante o después de la

15 fermentación.

*L. plantarum* LPCO10, una bacteria láctica aislada de una fermentación de aceitunas verdes, produce dos bacteriocinas, llamadas plantaricinas S y T, que son activas frente a gran número de microorganismos competidores de dicha cepa

20 bacteriana en las salmueras de fermentación, como por ejemplo, otras cepas de *L. plantarum*, y otras especies de lactobacilos, leuconostocs, pediococos y estreptococos, así como frente a bacterias (propionobacterias, clostridios) que pueden causar deterioros del fruto en dichas fermentaciones (Jiménez-Díaz et al. "Plantaricins S and T, two new bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum*

25 LPCO10 isolated from a green olive fermentation"; Appl. Environ. Microbiol. 59 (5), 1416-1424, 1993). *L. plantarum* LPCO10 se ha utilizado como cultivo iniciador de la fermentación de aceitunas verdes "estilo español" o "sevillano" a nivel de planta experimental (Ruiz-Barba et al. "Use of *Lactobacillus plantarum* LPCO10, a bacteriocin producer, as a starter culture in Spanish-style green olive

30 fermentations"; Appl. Environ. Microbiol. 60 (6), 2059-2064, 1994). Sin embargo, se ha comprobado que esta cepa presenta ciertos problemas de retardo de crecimiento en las condiciones que se dan a menudo en las fermentaciones

industriales de productos vegetales, tales como amplios rangos de temperatura de fermentación, condiciones extremas de pH y salinidad y ausencia de nutrientes en el medio de cultivo.

- 5 El objeto de la presente invención es el desarrollo de un procedimiento de fermentación de productos vegetales que, mediante la inoculación con un cultivo de un nuevo microorganismo, *L. plantarum* LP RJ1, que produce una bacteriocina denominada plantaricina S, permita superar los problemas de falta de homogeneidad en el producto y de deterioro indicados anteriormente.

10

#### EXPLICACION DE LA INVENCION

El procedimiento de fermentación de productos vegetales que se propone incluye las etapas de:

- 15 a) colocación de los productos vegetales en una salmuera que contiene cloruro sódico en un rango comprendido entre el 1 y el 15% (peso/volumen).  
b) mantenimiento de dichos productos vegetales en la salmuera durante un periodo de tiempo comprendido entre 4 y 210 días.  
c) retirada del producto fermentado de la salmuera.

- 20 Se diferencia del procedimiento tradicional porque entre las 2 y las 144 horas de la colocación de los productos vegetales en la salmuera se efectúa una inoculación de dicha salmuera con el microorganismo *Lactobacillus plantarum* LP RJ1, depositado en la Colección Española de Cultivos Tipo con nº de registro 5102 (CECT 5102). El microorganismo se inocula suspendido en un caldo de cultivo a una concentración comprendida entre  $10^2$  y  $10^{11}$  unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml). El caldo de cultivo que se utilice puede ser medio MRS, salmuera de fermentación, leche descremada o solución salina. Alternativamente, el microorganismo puede introducirse también liofilizado.

30

Según el producto que se vaya a fermentar, por ejemplo diversas variedades de aceitunas, pepinillos, zanahorias etc., se ajustan los diversos parámetros del procedimiento: concentración del inóculo, momento en que se realiza la inoculación, tiempo de permanencia en la salmuera, ajuste de la acidez del medio, etc.

Así, cuando se trata de fermentar aceitunas, el procedimiento incluye las siguientes etapas:

a) tratamiento de los frutos con hidróxido sódico a una concentración comprendida entre el 1 y el 10% (peso/volumen) durante un periodo de tiempo comprendido entre 2 y 15 horas.

b) lavado de las aceitunas tratadas en la etapa anterior con agua durante un periodo de tiempo comprendido entre 1 y 28 horas.

c) colocación de las aceitunas tratadas y lavadas en una salmuera de cloruro sódico a una concentración comprendida entre el 1 y el 15% (peso/volumen).

d) inoculación de la salmuera entre las 12 y las 96 horas después de haberse colocado las aceitunas con un cultivo de *Lactobacillus plantarum* LP RJ1 a una concentración comprendida entre  $10^6$  y  $10^8$  UFC/ml.

e) mantenimiento de las aceitunas en dicha salmuera con inóculo durante un periodo de tiempo comprendido entre 30 y 210 días.

Puede incluirse una etapa de regulación de la acidez, antes de la etapa d), mediante la adición de ácido clorhídrico o ácido acético hasta conseguir que el pH alcance un valor comprendido entre 4,5 y 6,5 unidades.

Para pepinillos y zanahorias, la inoculación del microorganismo se efectúa en las primeras 24 horas después de haberlos colocado en la salmuera.

## BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

**Figura 1:** Representación del desarrollo microbiano en una salmuera de fermentación de aceitunas verdes "estilo español" o "sevillano" variedad Manzanilla, inoculada con un cultivo iniciador de *L. plantarum* LP RJ1 (productor de la bacteriocina plantaricina S), a lo largo de 50 días de fermentación de las mismas.

**Figura 2:** Representación de la evolución del pH y la acidez libre en una salmuera de fermentación de aceitunas verdes "estilo español" o "sevillano" variedad Manzanilla, inoculada con un cultivo iniciador de *L. plantarum* LP RJ1 (productor de la bacteriocina plantaricina S), a lo largo de 50 días de fermentación de las mismas.

## DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

El procedimiento de fermentación de productos vegetales objeto de la presente invención se diferencia del proceso tradicional porque incluye el paso adicional de la inoculación de la salmuera con un cultivo del microorganismo *Lactobacillus plantarum* LP RJ1. La capacidad de esta cepa de producir una bacteriocina, denominada plantaricina S, cepa que va a ser utilizada como cultivo iniciador en la fermentación de diversos vegetales, le confiere una gran ventaja para imponerse a la flora bacteriana natural contaminante de estos productos y sobre aquella que pudiera contaminar el producto fermentado posteriormente y causar alteraciones que lo hicieran no apto para su consumo y/o comercialización. La potenciación de la capacidad de competir de la cepa LP RJ1 con el resto de microflora contaminante, debida principalmente al hecho de producir la bacteriocina plantaricina S, radica en el amplio espectro de actividad de la misma. Esta bacteriocina, que es una sustancia de naturaleza protéica y que la cepa LP R1 produce de forma natural, ha demostrado ser capaz de inhibir el desarrollo de distintas cepas de bacterias naturalmente presentes en productos vegetales en procesos de fermentación natural, incluyendo además aquellas que han sido descritas como alteradoras de la fermentación normal y/o del producto final, y también algunas bacterias patógenas para el hombre.



Dicha potenciación de la capacidad de la cepa LP RJ1 de competir con la flora microbiana contaminante natural redundará en una mayor rapidez a la hora de completar la fermentación de los vegetales en las condiciones descritas, con una mayor homogeneidad de los productos finales obtenidos. Asimismo, la acción

5 inhibitoria de la bacteriocina producida por la cepa LP RJ1 a lo largo de la fermentación sobre posibles bacterias alteradoras, hace que el producto se conserve con mayores garantías y a más largo plazo. Al ser las bacteriocinas sustancias totalmente naturales e inocuas para otros organismos vivos que no sean aquellas bacterias a las que inhibe, su presencia en el producto final no

10 puede calificarse como aditivo o conservante, puesto que forma parte del metabolismo natural de un microorganismo vivo usado tradicionalmente en la fermentación de productos vegetales.

Se expone a continuación un ejemplo del procedimiento de fermentación

15 objeto de la presente invención aplicado a aceitunas:

Se tomaron 300 Kg de aceitunas verdes (*Olea europaea* L.) variedad Manzanilla y se trataron con una solución de NaOH al 2,1% (peso/volumen) en agua durante 6 horas y 20 minutos en un fermentador de fibra de vidrio a una

20 temperatura ambiente que osciló entre 18,3 y 20,6 °C y a una temperatura en el interior del fermentador comprendida entre 22,9 y 24,4°C. Posteriormente se tiró la solución de NaOH, se lavaron las aceitunas con agua corriente (primer lavado) y se dejaron éstas en agua (segundo lavado) en el fermentador durante 1 hora 40 minutos, a una temperatura ambiente de 20,1°C y a una temperatura en el interior

25 del fermentador comprendida entre 20,7 y 21,4°C. Transcurrido ese tiempo, las aceitunas se cubrieron con 200 litros de salmuera de cloruro sódico al 6,5 % (peso/volumen) y el pH inicial de la mezcla salmuera/frutos, que inicialmente era de 8,9, se bajó a 4,58 añadiendo 800 ml de ácido clorhídrico 11,5N. A los cuatro días de estar colocadas las aceitunas en salmuera, se procedió a inocularlas con

30 *L. plantarum* LP RJ1 crecido en un medio de cultivo MRS, a una concentración final de  $10^5$  UFC/ml. Durante 48 días se siguió el desarrollo microbiológico en el fermentador tanto de la cepa inoculada como las de otros microorganismos que

pudieran desarrollarse en las salmueras, así como la evolución del pH y la acidez libre. Los resultados se presentan en las figuras 1 y 2.

Como se puede observar en la figura 1, curva 1, el microorganismo *L.*  
5 *plantarum* LP RJ1

**REIVINDICACIONES**

1.- Procedimiento de fermentación de productos vegetales que incluye las siguientes etapas:

- a) colocación de dichos productos vegetales en una salmuera que contiene cloruro sódico en un rango comprendido entre el 1 y el 15% (peso/volumen).
- b) mantenimiento de dichos productos vegetales en la salmuera durante un periodo de tiempo comprendido entre 4 y 210 días.
- c) retirada del producto fermentado de la salmuera.

10 caracterizado porque entre las 2 y las 144 horas de la colocación de los productos vegetales en la salmuera se efectúa una inoculación de dicha salmuera con el microorganismo *Lactobacillus plantarum* LP LRJ1 depositado en la Colección Española de Cultivos Tipo con nº de registro 5102 (CECT 5102).

15 2.- Procedimiento de fermentación de productos vegetales según la reivindicación 1, caracterizado porque el inóculo del microorganismo se hace a una concentración comprendida entre  $10^2$  y  $10^{11}$  UFC/ml suspendido en un caldo de cultivo.

20 3.- Procedimiento de fermentación de productos vegetales según la reivindicación 2, caracterizado porque la concentración del inóculo esta comprendida entre  $10^6$  y  $10^8$  UFC/ml y el caldo de cultivo es medio MRS, salmuera de fermentación, leche descremada o una solución salina.

25 4.- Procedimiento de fermentación de productos vegetales según la reivindicación 2, caracterizado porque la concentración del inóculo esta comprendida entre  $10^6$  y  $10^8$  UFC/ml y el microorganismo se introduce liofilizado.

5.- Procedimiento de fermentación de productos vegetales según las reivindicaciones 1-4, caracterizado porque cuando el producto vegetal que se fermenta son aceitunas dicho procedimiento incluye las etapas siguientes:

- a) tratamiento con hidróxido sódico a una concentración comprendida entre el 1 y el 10% (peso/volumen) durante un periodo de tiempo comprendido entre 2 y 15 horas.
- b) lavado de las aceitunas tratadas en la etapa anterior con agua durante un periodo de tiempo comprendido entre 1 y 28 horas.
- c) colocación de las aceitunas tratadas y lavadas en una salmuera de cloruro sódico a una concentración comprendida entre el 1 y el 15% (peso/volumen).
- d) inoculación de la salmuera entre las 12 y las 96 horas después de haberse colocado las aceitunas con un cultivo de *Lactobacillus plantarum* LP RJ1 a una concentración comprendida entre  $10^6$  y  $10^8$  UFC/ml.
- e) mantenimiento de las aceitunas en dicha salmuera con inóculo durante un periodo de tiempo comprendido entre 30 y 210 días.

6.- Procedimiento de fermentación de productos vegetales según la reivindicación 5, caracterizado porque como paso previo a la inoculación de la salmuera se lleva a cabo una regulación de la acidez mediante la adición de ácido clorhídrico ó ácido acético hasta conseguir un pH comprendido entre 4,5 y 6,5 unidades.

7.- Procedimiento de fermentación de productos vegetales según las reivindicaciones 1-4, caracterizado porque cuando el producto que se fermenta son pepinillos la inoculación del microorganismo se realiza en las primeras 24 horas después su colocación en la salmuera, manteniéndose los pepinillos en la salmuera durante un periodo de tiempo comprendido entre 4 y 90 días.

8.- Procedimiento de fermentación de productos vegetales según las reivindicaciones 1-4, caracterizado porque cuando el producto que se fermenta son zanahorias la inoculación del microorganismo se realiza en las primeras 24 horas después su colocación en la salmuera, manteniéndose las zanahorias en la salmuera durante un periodo de tiempo comprendido entre 4 y 90 días.

9.- *Lactobacillus plantarum* LP RJ1 depositado en la Colección Española de Cultivos Tipo el 10/12/1998, con el nº 5102.

10.- Utilización del microorganismo *Lactobacillus plantarum* LP RJ1, depositado en la Colección Española de Cultivos Tipo el 10/12/1998 con el nº 5102, para la fermentación de productos vegetales.

11.- Utilización del microorganismo *Lactobacillus plantarum* LP RJ1, depositado en la Colección Española de Cultivos Tipo el 10/12/1998 con el nº 5102, para la fermentación de aceitunas.

12.- Utilización del microorganismo *Lactobacillus plantarum* LP RJ1, depositado en la Colección Española de Cultivos Tipo el 10/12/1998 con el nº 5102, para la fermentación de pepinillos.

13.- Utilización del microorganismo *Lactobacillus plantarum* LP RJ1, depositado en la Colección Española de Cultivos Tipo el 10/12/1998 con el nº 5102, para la fermentación de zanahorias.

14.- Productos vegetales fermentados obtenidos mediante un procedimiento según las reivindicaciones 1-4.

15.- Aceitunas fermentadas obtenidas mediante un procedimiento según las reivindicaciones 5 y 6.

16.- Pepinillos fermentados obtenidos mediante un procedimiento según la reivindicación 7.

5 17.- Zanahorias fermentadas obtenidas mediante un procedimiento según la reivindicación 8.

1/2

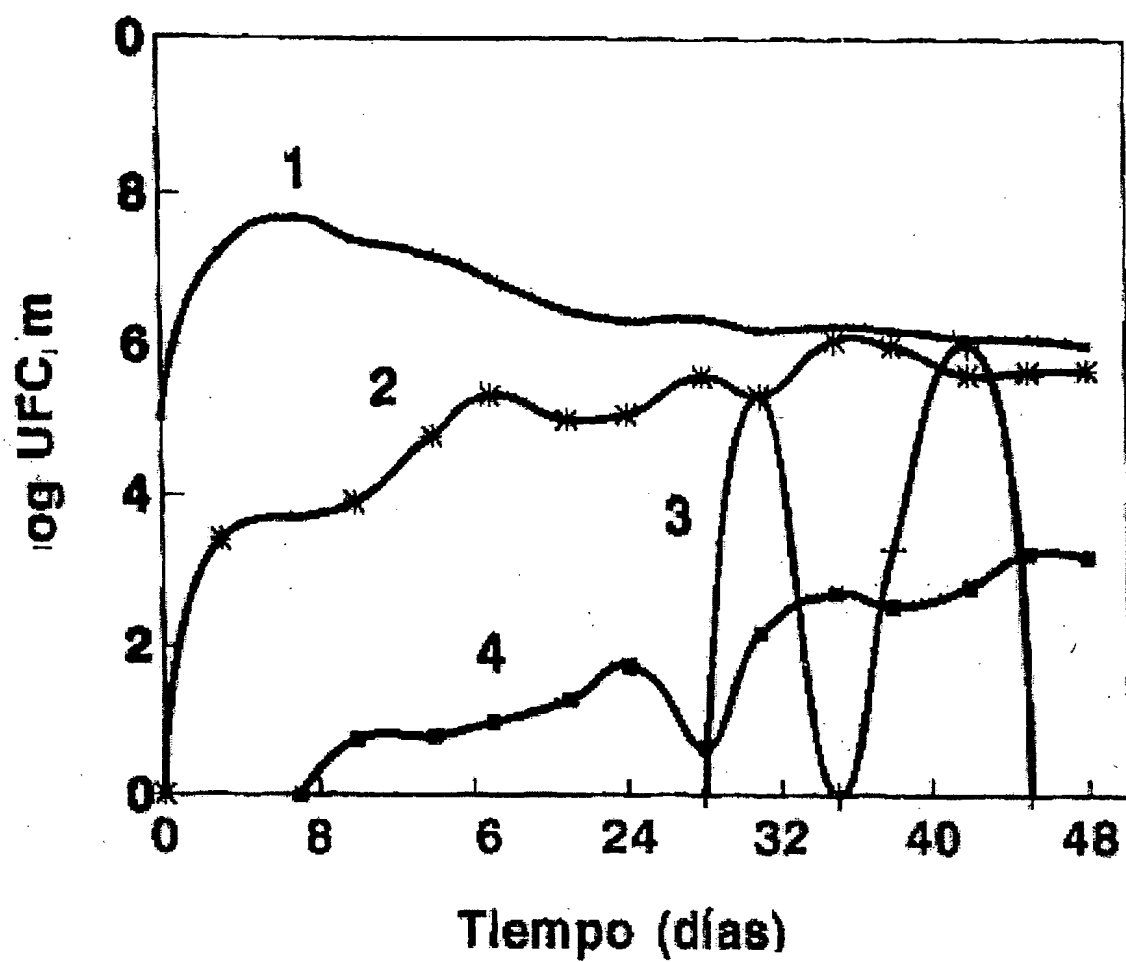


Figura 1

2/2

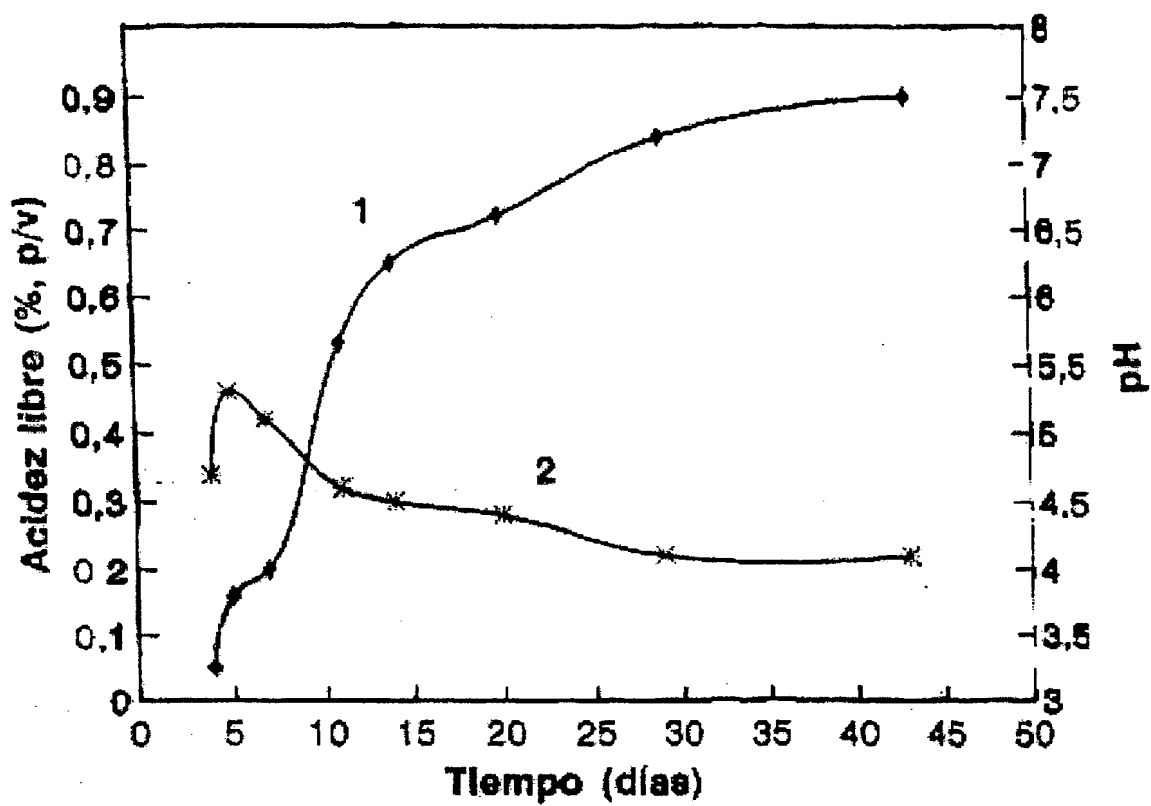


Figura 2



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES 00/00125

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7: A23B 7/10, A23L 1/218

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7: A23B, A23L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CIBEPAT, EPODOC, WPI, BIOSIS,

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4342786 A (RACCACH) 03 August 1982 (03.08.82)	
A	RUIZ-BARBA J.L. et al. Use of Lactobacillus plantarum LP010, a Bacteriocin Producer, as a starter culture in Spanish-Style Green Olive Fermentations. Appl. Environ. Microbiol., June 1994, vol. 60, No.6, Pages 2059-2064	

☐

Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒

See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 July 2000 (25.07.00)

Date of mailing of the international search report

01 August 2000 (01.08.00)

Name and mailing address of the ISA/

S.P.T.O.

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International Application No

PCT/ES 00/00125

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4342786 A	03.08.1982	NONE	

**INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL**Solicitud internacional n°  
PCT/ ES 00/00125**A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD**CIP<sup>7</sup> A23B 7/10, A23L 1/218

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y la CIP.

**B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA**

Documentación mínima consultada (sistema de clasificación, seguido de los símbolos de clasificación)

CIP<sup>7</sup> A23B, A23L

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

CIBEPAT, EPODOC, WPI, BIOSIS,

**C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES**

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones n°
A	US 4342786 A (RACCACH) 03.08.1982	
A	RUIZ-BARBA J.L. et al. Use of Lactobacillus plantarum LPO10, a Bacteriocin Producer, as a starter culture in Spanish-Style Green Olive Fermentations. Appl. Environ. Microbiol., Junio 1994, vol. 60, n° 6, páginas 2059-2064	

☐ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos ☒ Los documentos de familia de patentes se indican en el anexo

## \* Categorías especiales de documentos citados:

"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.

"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.

"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).

"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.

"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.

"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.

"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.

"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.

"&amp;" documento que forma parte de la misma familia de patentes.

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional. 25 Julio 2000 (25.07.2000)

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional

1 AGO 2000

1. 08. 00

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional O.E.P.M.  
C/Panamá 1, 28071 Madrid, España.  
n° de fax +34 91 3495304

Funcionario autorizado

Juana López Nieto

n° de teléfono + 34 91 3495536

**INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL**

Información relativa a miembros de familias de patentes

Solicitud internacional n°

PCT/ ES 00/00125

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de publicación
US 4342786 A	03.08.1982	NINGUNO	